



## Klinische Epidemiologie der Kälber-Cryptosporidiose

Weber, S E ; Lippuner, C ; Corti, S ; Deplazes, P ; Hässig, M

**Abstract:** Ziel dieser Studie war es, einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Cryptosporidien und immunologischen Faktoren, sowie Betriebsfaktoren und die Verwendung von Halofuginon, zu untersuchen. Von Januar bis Juni 2010 wurden im Kanton Zürich 63 Mutter- Kalb-Paare aus 20 verschiedenen Betrieben untersucht. Innerhalb von 6 Wochen erfolgten zu ausgewählten Zeitpunkten drei Besuche. Dabei wurden Bestandsdaten erhoben, wie auch Blut-, Kot-, Kolostrum-, respektive Milchproben untersucht. Zum Nachweis von anti-Cryptosporidien-IgG im Blut- und Kolostrum- Serum wurde ein ELISA mit Sporozoiten-Antigen entwickelt. Die IgG-Konzentration im Kolostrum- und Blutserum wurde mittels RID (Radialer Immundiffusionstest) bestimmt. Zusätzlich wurde bei der Kuh und beim Kalb ein Differenzialblutbild erstellt und beim Muttertier ein Schalmtest durchgeführt. Bakteriologische Untersuchungen erfolgten an Vierviertelgemelksproben. Cryptosporidien-Oozysten wurden durch eine modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung, andere Protozoen durch die SAFC-Methode nachgewiesen und mittels kombiniertem Sedimentations-/Flotationsverfahren wurden Helminthen-Eier und Eimeria-Oozysten erfasst. Ein ELISA diente dem Nachweis von Rota- und Coronaviren, E. coli F5 und Cryptosporidium spp. in bovinem Faeces (Bio-X Diagnostics®, Belgien). Die Prävalenz von Cryptosporidien-Infektionen war zwischen dem 7. und 20. Lebenstag der Kälber am höchsten (54.0%), wobei 47.1% dieser Kälber an Durchfall litten. Offenställe steigerten signifikant das Risiko für Durchfall, bzw. für Cryptosporidien-Ausscheidung zwischen dem 1. und 4., bzw. zwischen dem 7. und 20. Lebenstag. Die Übertragung von Total-IgG mit dem Kolostrum und die humorale Immunität des Kalbes konnten keine Infektion mit Cryptosporidien verhindern, der Schweregrad der Durchfallsymptomatik nahm aber mit zunehmender total IgG-Konzentration ab. Der für die Prophylaxe gegen Cryptosporidiose zugelassene Wirkstoff Halofuginon zeigte in dieser Studie keine Wirkung auf die Ausscheidung von Cryptosporidien-Oocysten. The aim of this study was to determine whether there is an association between Cryptosporidium infections in calves and immunological factors, as well as farm-related factors or the application of the anti-cryptosporidiosis drug Halofuginone. From January to June 2010, 63 cow-calf-pairs from 20 different farms near Zürich, Switzerland have been investigated. Each cowcalf- pair was visited three times within the first 6 weeks of life to collect data of the farm and animals, as well as blood, faecal, colostral and milk samples. An ELISA using sporozoite antigen was developed for the specific detection of anti-Cryptosporidium-IgG in blood- and colostral serum. The IgG concentration in the bloodand colostral serum was determined using radial immuno diffusion test (RID). White blood cell isolation and differential blood cell counts and California Mastitis Test were performed. Bacteriological studies on quarter-milk-samples were carried out. Cryptosporidium oocysts were diagnosed with the modified Ziehl-Neelsen staining, other protozoa with the SAFC method and Eimeria oocysts and helminth eggs were diagnosed with the combined sedimentation/floatation test. ELISAs were performed for the detection of rota- and coronavirus, E. coli F5 and Cryptosporidium spp. in bovine feces (bio-X Diagnostics®, Belgium). The highest prevalence of Cryptosporidium oocysts was 54.0% and found 7 to 20 days post natum, whereas 47.1% were suffering from diarrhea. The transfer of total IgG with the colostrum and the humoral immunity of the calf could not prevent any infection with Cryptosporidium, but the severity of the diarrhea symptoms decreased with increasing total IgG concentrations. Calves housed in open sheds showed significantly more often diarrhea, i. e. they shed more Cryptosporidium oocysts during the first 4 days and 7 to 20 days post natum, respectively. Halofuginone (Halocur®) is approved for prophylaxis against cryptosporidiosis, but it showed no effect on the excretion of Cryptosporidium oocysts in the present study.

DOI: <https://doi.org/10.17236/sat00062>

Posted at the Zurich Open Repository and Archive, University of Zurich

ZORA URL: <https://doi.org/10.5167/uzh-125311>

Journal Article

Published Version

Originally published at:

Weber, S E; Lippuner, C; Corti, S; Deplazes, P; Hässig, M (2016). Klinische Epidemiologie der Kälber-Cryptosporidiose. Schweizer Archiv für Tierheilkunde, 158(5):341-350.

DOI: <https://doi.org/10.17236/sat00062>

# Klinische Epidemiologie der Kälber-Cryptosporidiose

S. E. Weber<sup>1</sup>, C. Lippuner<sup>1, 2</sup>, S. Corti<sup>3</sup>, P. Deplazes<sup>2</sup>, M. Hässig<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Abteilung Ambulanz und Bestandesmedizin, Departement für Nutztiere, <sup>2</sup>Institut für Parasitologie und

<sup>3</sup>Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene der Universität Zürich

## Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war es, einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Cryptosporidien und immunologischen Faktoren, sowie Betriebsfaktoren und die Verwendung von Halofuginon, zu untersuchen. Von Januar bis Juni 2010 wurden im Kanton Zürich 63 Mutter-Kalb-Paare aus 20 verschiedenen Betrieben untersucht. Innerhalb von 6 Wochen erfolgten zu ausgewählten Zeitpunkten drei Besuche. Dabei wurden Bestandsdaten erhoben, wie auch Blut-, Kot-, Kolostrum-, respektive Milchproben untersucht. Zum Nachweis von anti-Cryptosporidien-IgG im Blut- und Kolostrum-Serum wurde ein ELISA mit Sporozoiten-Antigen entwickelt. Die IgG-Konzentration im Kolostrum- und Blutserum wurde mittels RID (Radialer Immundiffusionstest) bestimmt. Zusätzlich wurde bei der Kuh und beim Kalb ein Differenzialblutbild erstellt und beim Muttertier ein Schalmtest durchgeführt. Bakteriologische Untersuchungen erfolgten an Vierviertelgemelkproben. Cryptosporidien-Oozysten wurden durch eine modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung, andere Protozoen durch die SAFC-Methode nachgewiesen und mittels kombiniertem Sedimentations-/Flotationsverfahren wurden Helminthen-Eier und *Eimeria*-Oozysten erfasst. Ein ELISA diente dem Nachweis von Rota- und Coronaviren, *E. coli* F5 und *Cryptosporidium* spp. in bovinem Faeces (Bio-X Diagnostics®, Belgien). Die Prävalenz von Cryptosporidien-Infektionen war zwischen dem 7. und 20. Lebenstag der Kälber am höchsten (54.0%), wobei 47.1% dieser Kälber an Durchfall litten. Offenställe steigerten signifikant das Risiko für Durchfall, bzw. für Cryptosporidien-Ausscheidung zwischen dem 1. und 4., bzw. zwischen dem 7. und 20. Lebenstag. Die Übertragung von Total-IgG mit dem Kolostrum und die humorale Immunität des Kalbes konnten keine Infektion mit Cryptosporidien verhindern, der Schweregrad der Durchfallsymptomatik nahm aber mit zunehmender total IgG-Konzentration ab. Der für die Prophylaxe gegen Cryptosporidiose zugelassene Wirkstoff Halofu-

## Clinical epidemiology of cryptosporidiosis in calves

The aim of this study was to determine whether there is an association between *Cryptosporidium* infections in calves and immunological factors, as well as farm-related factors or the application of the anti-cryptosporidiosis drug Halofuginone. From January to June 2010, 63 cow-calf-pairs from 20 different farms near Zürich, Switzerland have been investigated. Each cow-calf-pair was visited three times within the first 6 weeks of life to collect data of the farm and animals, as well as blood, faecal, colostral and milk samples. An ELISA using sporozoite antigen was developed for the specific detection of anti-*Cryptosporidium*-IgG in blood- and colostral serum. The IgG concentration in the blood- and colostral serum was determined using radial immunodiffusion test (RID). White blood cell isolation and differential blood cell counts and California Mastitis Test were performed. Bacteriological studies on quarter-milk-samples were carried out. *Cryptosporidium* oocysts were diagnosed with the modified Ziehl-Neelsen staining, other protozoa with the SAFC method and *Eimeria* oocysts and helminth eggs were diagnosed with the combined sedimentation/floatation test. ELISAs were performed for the detection of rota- and coronavirus, *E. coli* F5 and *Cryptosporidium* spp. in bovine feces (bio-X Diagnostics®, Belgium). The highest prevalence of *Cryptosporidium* oocysts was 54.0% and found 7 to 20 days post natum, whereas 47.1% were suffering from diarrhea. The transfer of total IgG with the colostrum and the humoral immunity of the calf could not prevent any infection with *Cryptosporidium*, but the severity of the diarrhea symptoms decreased with increasing total IgG concentrations. Calves housed in open sheds showed significantly more often diarrhea, i.e. they shed more *Cryptosporidium* oocysts during the first 4 days and 7 to 20 days post natum, respectively. Halofuginone (Halocur®) is approved for prophylaxis against cryptosporidiosis, but it showed

DOI 10.17236/sat00062

Eingereicht: 03.09.2015

Angenommen: 07.01.2016

Klinische Epidemiologie  
der Kälber-Cryptosporidiose

S. E. Weber et al.

ginon zeigte in dieser Studie keine Wirkung auf die Ausscheidung von Cryptosporidien-Oocysten.

**Schlüsselwörter:** Cryptosporidium, Cryptosporidiose, Rind, Klinik, Epidemiologie

no effect on the excretion of *Cryptosporidium* oocysts in the present study.

**Keywords:** Cryptosporidium, cryptosporidiosis, cattle, clinic, epidemiology

## Einleitung

Cryptosporidien sind intrazelluläre Darm-Protozoen, welche im Kot oder Stuhl der Wirte als ca. 5 µm grosse und bereits infektiöse, Umwelt-resistente Oocysten ausgeschieden werden. Das Wirtsspektrum der ca. 25 bisher beschriebenen *Cryptosporidium* spp. umfasst viele Säugetiere inklusive dem Menschen, aber auch Fische, Reptilien und Vögel. Die verschiedenen Arten (früher auch in Genotypen unterteilt) unterscheiden sich in ihrer Wirtsspezifität und Virulenz. So befällt *Cryptosporidium hominis* vor allem Menschen und Affen und wird in der Schweiz nicht als Zoonoseerreger eingestuft, wobei diese Art jedoch bei Kindern mit Durchfall und Reiseanamnese am häufigsten nachgewiesen wird (Gläser et al., 2004). *C. parvum* ist weniger wirtsspezifisch und befällt Wiederkäuer, Menschen und viele andere Säuger und stellt daher einen Zoonose-Erreger in der Schweiz dar. Durchfallerkrankungen verursacht durch *C. parvum* bei immunkompetenten Individuen sind jedoch trotz grosser Verbreitung bei Kälbern, Lämmern und Kitzen und dem Vorkommen in Fliessgewässern in der Schweiz (Ward et al., 2002) selten. *C. parvum* und andere Cryptosporidien-Arten traten früher in der Schweiz bei AIDS-Patienten gehäuft als gefährliche opportunistische Erreger auf (Morgan et al., 2000).

Die bovine Cryptosporidiose verursacht durch *C. parvum* kommt weltweit vor und ist von grosser wirtschaftlicher Bedeutung, besonders als Durchfallerreger bei Kälbern in den ersten 3 Lebenswochen. In Europa wurden je nach Land Prävalenzen von 27.8% bis 71.9% bei unter einem Monat alten Kälbern gefunden (Joachim et al., 2003; Uhde et al., 2008; Gulliksen et al., 2009; Izzo et al., 2011). In einer Schweizer Studie schieden in 43.0% der an Durchfall leidenden und in 21.0% der gesunden Kälber in den ersten 3 Lebenswochen Cryptosporidien-Oocysten aus (Luginbühl et al., 2005). In einer weiteren Untersuchung in der Schweiz wurde bei der gleichen Altersgruppe eine Prävalenz von 55.0% nachgewiesen (Uhde et al., 2008). Mischinfektionen mit Rotaviren sind am häufigsten, wobei je nach Studie und Land Cryptosporidien oder Rotaviren höhere Prävalenzen aufweisen (de la Fuente et al., 1999; Krull et al., 2003; Luginbühl et al., 2005; Uhde et al., 2008; Izzo et al., 2011).

Die Chemotherapie der Cryptosporidiose des Kalbes ist im Allgemeinen unbefriedigend wirksam (Schnyder et

al., 2009). Zur Prophylaxe und Metaphylaxe des durch die Cryptosporidiose bedingten Durchfalls ist in der Schweiz nur der Wirkstoff Halofuginon (Halocur® Veterinaria AG) zugelassen. Die Wirkung von Halofuginon wird jedoch in der Literatur kontrovers diskutiert, zudem muss mit starken Nebenwirkungen gerechnet werden, vor allem wegen der geringen therapeutischen Breite. Durch die Anwendung von Halofuginon in den ersten Lebenstagen des Kalbes wird die Ausscheidung von Oozysten reduziert und tritt zeitlich später in Erscheinung, die Infektion wird aber nicht unterbunden. Ausserdem kann das klinische Auftreten von Durchfall reduziert werden (Lefey et al., 2001; Krull et al., 2003; Jarvie et al., 2005; Silverlas et al., 2009). Schnyder et al. (2009) stellen die Wirkung von Halofuginon weitaus kritischer dar.

Die Gabe von Kolostrum scheint bezüglich später ausgeschiedener Oozystenmenge und Schwere des Durchfalls keine direkte Rolle zu spielen (Tzipori et al., 1983). Mittlerweile wird vermutet, dass die zelluläre Immunität des Kalbes eine bedeutende Rolle bei der Abwehr von Cryptosporidien spielen könnte (Riedel-Caspari und Schmidt, 1991). Ohne weitere zelluläre Differenzierung konnte gezeigt werden, dass während experimenteller Infektionen die spezifische Immunantwort von Lymphozyten gegen Cryptosporidien sehr früh nachzuweisen ist (Whitmire und Harp, 1991).

Epidemiologische Studien über die bovine Cryptosporidiose befassten sich in der Vergangenheit entweder mit Prävalenz- und/oder Verlaufsuntersuchungen oder mit der Identifizierung von Betriebsfaktoren, welche Cryptosporidien-Infektionen beeinflussen können. Ziel der vorliegenden Querschnittstudie war es, einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Cryptosporidien und immunologischen Parametern bei Kälbern und Kühen sowie betrieblichen Bedingungen herzustellen oder auszuschliessen.

## Tiere, Material Und Methoden

### Tiere

Insgesamt wurden 63 Mutter-Kalb-Paare aus 20 verschiedenen Betrieben im Kanton Zürich untersucht, welche allesamt im Einzugsgebiet der Ambulanz des Tierspitals Zürich lagen. Beim ersten Betriebsbesuch waren die Kälber zwischen 1 und 4 Tage, beim zweiten zwischen

7 und 20 Tage und beim dritten zwischen 26 und 49 Tage alt (Tab. 3).

### Betriebe

Von den 20 in die Studie einbezogenen Betrieben handelte es sich um 5 Mutterkuh- und 15 Milchviehbetriebe. Die Anzahl Tiere pro Betrieb variierte zwischen 9 und 120 Tieren, mit einem Mittelwert von 54.3 (Median: 46). Neun Betriebe hielten ihre Tiere in Anbindehaltung (1 Offenstall, 8 geschlossene Ställe) und 11 in einem Laufstall (8 Offen-, 3 geschlossene Ställe). Von 20 Betrieben kauften 9 keine Tiere zu. Keiner dieser Betriebe stellte die Tiere nach dem Kauf unter Quarantäne. 52 Kälber stammten aus Milchviehbetrieben (44 aus IP-, 8 aus Biobetrieben) und 12 aus Mutterkuherden (10 aus IP-, 2 aus Biobetrieben). Von den 64 Kälbern stammten 38 von Betrieben mit Abkalbeboxen; 26 der 64 Kälber stammten aus Betrieben, die laut Besitzer Bestandsprobleme bezüglich Kälberdurchfall aufwiesen.

Die Daten wurden durch mündliche Befragung der Landwirte, mithilfe eines standardisierten Fragebogens (FB) erhoben. Der FB kann unter <http://www.tierspital.uzh.ch/Nutztiere/Ambulanz/Kontakt.html> eingesehen werden.

### Bakteriologie

Sofort nach der Geburt des Kalbes wurde vom Muttertier Kolostrum in Form einer Vierviertelsgemelk-Probe durch den Landwirt entnommen. Für die bakteriologische Untersuchung am Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene wurden 1–2 ml des Kolostrums in ein Milchröhrchen überführt. Anschliessend wurde das kolostrale Serum bei –80 °C eingefroren.

### Anti-Cryptosporidien-IgG Bestimmung

Ein *C. parvum*-Triton-Extrakt aus Oozysten/Sporozysten wurde zur Beschichtung der Maxisorp™ ELISA-Platten (Nunc), 2.5 µg Antigen /ml Karbonat/Bikarbonat-Puffer (pH 9.6) eingesetzt (100 µl/Well). Die Testdurchführung erfolgte grundsätzlich wie bei Schweiger et al. (2012) aber mit folgenden Modifikationen: Die Serumverdünnungen (Blut und Kolostrum) betrugen 1:200, 1:400, 1:800 und 1:1600. Das alkalische Phosphatase-Konjugat (Ziegen anti-Rinder IgG [KPL]) wurde 1:1500 verdünnt. Als Kontrolle enthielt jede Platte Referenzseren, welche den Vergleich der Extinktionen zwischen den Platten ermöglichte. Mittels RID (Radialer Immundiffusion) wurde die quantitative IgG-Konzentration im Kolostrum- und Blutserum bestimmt (Fahey und McKelvey, 1965). Beim Muttertier wurde eine einmalige Blutprobe innerhalb von 4 Tagen nach Abkalben aus der Vena coccygea entnommen und ein Differenzialblutbild erstellt sowie eine Leukozytenisolierung vorgenommen.

### Isolierung von kolostralen Leukozyten

Frisches Kolostrum (15 ml) wurde mit 30 ml PBS verdünnt (Verhältnis 1:3) und die kolostralen Zellen im Pellet durch Zentrifugation (5 Min. bei 400 g) angereichert. Nach Entfernung der Fettschicht und des kolostralen Serums wurde das Pellet zweimal in 50 ml PBS resuspendiert und erneut bei 400 g 5 Min. zentrifugiert, wobei der Überstand jeweils verworfen wurde. Anschliessend wurde das gewaschene Pellet in PBS mit 2% v/v FCS resuspendiert und je 15 ml der Suspension wurden vorsichtig auf 15 ml Ficoll-Lösung (Ficoll Paque Plus, 17-1440-03, GE-Healthcare) überschichtet. Die Zentrifugation der Gradienten dauerte 30 Min. bei 400 g bei einer Temperatur von 25 °C. Die Interphase des Ficoll-Gradienten, welche die Kolostrum-Leukozyten enthält, wurde abgesaugt und in PBS mit 2% FCS v/v gegeben. Die Proben wurden bei 4 °C 5 Min. bei 400 g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet in PBS mit 2% v/v FCS resuspendiert und erneut zentrifugiert. Dieser Waschschrift wurde ein weiteres Mal wiederholt. Die Interphase und das Pellet wurden in PBS mit 2% v/v FCS resuspendiert und die Zellen in einer Neubauer-Zählkammer ausgezählt. Die Zellen wurden in vier Kategorien eingeteilt: kleine Zellen, grosse granuläre Zellen, Lymphozyten-ähnliche Zellen und tote, mit Trypanblau angefärbte Zellen.

### Nachweis intestinaler Erreger

Cryptosporidien-Oozysten wurden durch eine modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung nachgewiesen. Mittels kombiniertem Sedimentations-/Flotationsverfahren liessen sich Helminthen-Eier und Protozoen-Oozysten anreichern (Eckert et al., 2008). Zusätzlich wurden mittels eines kommerziellen ELISA (Bio-X Diagnostics®, Belgien) Rota- und Coronaviren, *E. coli* F5 und *Cryptosporidium parvum* in Kotproben bestimmt.

### Statistik

Die statistischen Auswertungen erfolgte mit dem Programm Stata® 11 (StataCorp., 2009; Stata Statistical Software: Release 11.0; College Station, TX, USA: StataCorp LP) durchgeführt. Für die univariable sowie multivariable logistische Regression wurden nur kategoriale Variablen weiterverwendet, welche  $n \geq 5$  in der kleinsten Kategorie hatten. Die Variablen wurden auf Normalverteilung untersucht und wenn nötig transformiert. Anschliessend wurden die Variablen einander mittels Korrelationsmatrix gegenübergestellt. War die Korrelation  $\geq 0.90$ , wurde nur eine der beiden Variablen beibehalten. Die Analyse der unabhängigen Variablen mit den Zielvariablen erfolgte mittels univariater logistischer Regression. Es wurden nur Variablen beibehalten, welche einen p-Wert von  $\leq 0.20$  für die entsprechende Zielvariable aufwiesen. In einem nächsten Schritt erfolgte die Berechnung von 5 Modellen, um eine Übersättigung mit totalen Verlust an Freiheitsgraden zu ver-

Klinische Epidemiologie  
der Kälber-Cryptosporidiose

S. E. Weber et al.



Klinische Epidemiologie  
der Kälber-Cryptospori-  
diose

S. E. Weber et al.

meiden: Betriebsfaktoren, Faktoren welche das Management und die Haltung betreffen, Faktoren der Kuh, Faktoren des Kalbes und immunologische Faktoren. Die Variablen wurden entsprechend ihrem p-Wert geordnet. Innerhalb dieser Kategorien wurde für jede Zielvariable ein Modell mittels multivariater logistischer Regression im „step-forward“ Verfahren erstellt. Dabei wurden die Variablen mit den kleinsten p-Werten als erstes in das Modell einbezogen. Variablen mit  $p > 0.20$ , bzw. mit dem grössten p-Wert wurden aus dem Modell ausgeschlossen. Die Variablen aus den Modellen für jede einzelne Kategorie wurden anschliessend für jede Zielvariable mittels multivariater logistischer Regression im „step-forward“ Verfahren in einem Gesamtmodell analysiert. Variablen mit  $p > 0.20$  wurden aus dem Modell ausgeschlossen. Grundsätzlich galt ein p-Wert von  $\leq 0.05$  als statistisch signifikant.

## Ergebnisse

### Untersuchungen bei der Geburt

Bei 15.9% aller untersuchten Kühe wurden Cryptosporidien-Oozysten nachgewiesen. Der durchschnittliche IgG-Gehalt im Kolostrum der untersuchten Kühe lag

bei 111.3 g/l, wobei Werte zwischen 21.0 und 225.4 g/l gemessen wurden (Median: 110.6; SD: 45.9). In 57.1% der Proben wurde eine, in 31.8% zwei und bei einer Kuh drei verschiedene Bakterienarten in der Kolostrumprobe nachgewiesen (Tab. 1). Die nachgewiesenen Erreger im Kot der Kühe sind in Tabelle 2 aufgelistet. Positive Erregernachweise für die verschiedenen Besuchszeitpunkte sind in der Tabelle 3 zusammengefasst. Tabelle 4 listet die Häufigkeit des Vorkommens von Einzel- oder Mehrfachausscheidern von Enteropathogenen bei Kälbern zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten auf. Die Tabellen 5 und 6 fassen relevanten Faktoren bezüglich des Durchfalls mit oder ohne Cryptosporidien-Ausscheidung zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten zusammen. Der Extinktionswert im anti-Cryptosporidien-IgG-ELISA bei einer Verdünnung von 1:400 betrug durchschnittlich 0.314 und lag zwischen 0.104 und 1.055 (Median: 0.249; SD: 0.180) bei den untersuchten Kühen.

### Erster Besuch, Tag 1–4 post natum

Beim ersten Betriebsbesuch litten 18.8% der untersuchten Kälber an Durchfall und bei 34.4% davon waren Cryptosporidien-nachweisbar (in einem Fall im ELISA und in 21 Fällen durch Oozysten-Nachweis im Kot), andere Erreger waren nur vereinzelt erfassbar. Im Zeitraum Tag 1–4 pn bestand statistisch kein Zusammenhang zwischen der Ausscheidung von Cryptosporidien und dem Auftreten von Durchfall (Chi<sup>2</sup>-Test:  $p = 0.555$ ). Es zeigte sich, dass zum ersten Messzeitpunkt viele Cryptosporidien-positive Kälber mit verschiedenen anderen Erregern zusätzlich infiziert waren. Die Extinktionswerte für den anti-Cryptosporidien-IgG-ELISA bei einer Blutserum-Verdünnung von 1:400 für die verschiedenen Besuchszeitpunkte sind in der Tabelle 3 aufgelistet.

### Zweiter Besuch, Tag 7–20 post natum

Beim zweiten Betriebsbesuch schieden 36.7% der Kälber *Eimeria*-Oozysten, 35.0% *Giardia*-Zysten und 33.3% Cryptosporidien-Oozysten im Kot aus. Zu diesem Zeitpunkt wurden bei 15.0% der Kälber mittels ELISA *E. coli* F5- und bei 13.3% Rotaviren-Koproantigene und bei 11.7% *Strongyloides*-Eier nachgewiesen. Bei keinem Kalb wurden zu diesem Zeitpunkt Coronaviren nachgewiesen. Es bestand ein tendenzieller Zusammenhang zwischen der Ausscheidung von Cryptosporidien und dem Auftreten von Durchfall (Chi<sup>2</sup>-Test:  $p = 0.195$ ). Auch nahm die Anzahl der Kälber, welche mehr als ein Enteropathogen ausschieden, zu. Bei diesem zweiten Betriebsbesuch war die Anzahl von Rotavirus- und *Cryptosporidium*-Infektionen bei den Kälbern im Vergleich zum ersten Besuch stark erhöht. Dies konnte mittels ELISA nachgewiesen werden (Tab. 3).

Tabelle 1: Im Kolostrum vorhandene Bakterienarten (Mehrfachnennungen).

Erreger	Proben (n=63)
Keine	6
unspezif. Mischkultur	37
<i>Staphylococcus</i> spp.	24
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
<i>E. coli</i>	7
<i>Streptococcus</i> spp.	4
<i>Corynebacterium</i> spp.	1
Andere	5

Tabelle 2: Pathogene im Kot (Direktnachweis oder mittels ELISA) bei Kühen (n = 63) am ersten Betriebsbesuch (Tag 1–4 post partum).

Erreger		Anzahl Kühe
Rotaviren		1
Coronaviren		0
<i>E. coli</i> F5		19
<i>Cryptosporidium parvum</i>	ZN-Färbung <sup>§</sup>	0
	ELISA	10
	Total	10
<i>Giardia</i> spp.		0
MDS*		33
<i>Eimeria</i> spp.		13
<i>Dicrocoelium dentriticum</i>		3

<sup>§</sup>: modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung

\* Magendarm-Strongylyden

### Dritter Besuch, Tag 26–49 post natum

Beim dritten Betriebsbesuch wurde bei 35.0% aller Kälber Durchfall festgestellt. Lediglich 8.3% der Kälber litten an Durchfall mit Ausscheidung von Cryptosporidien, 25.0% schieden Cryptosporidien ohne Durchfallssymptomatik aus (Tab. 4; Abb. 1). In diesem Zeitraum bestand kein Zusammenhang zwischen der Ausscheidung von Cryptosporidien und dem Auftreten von Durchfall (Chi<sup>2</sup>-Test:  $p = 0.251$ ) und die Mehrheit der Kälber schied mehr als ein Enteropathogen aus.

## Diskussion

Die vorliegende Studie hatte zum Ziel, den Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Cryptosporidien und immunologischen, sowie epidemiologischen Faktoren zu untersuchen. Um mögliche Assoziationen spezifischer Mastitis-Erreger auf die Cryptosporidien-Ausscheidung und den Durchfall bei den Kälbern festzustellen, wurden die Kolostrum- und Milchproben bakteriologisch mittels Kultur untersucht.

In den USA und in Schweden wurden bei Kühen um den Geburtszeitpunkt relativ niedrige Prävalenzen von 0.0%, bzw. 5.6% bezüglich Cryptosporidienausscheidung ermittelt (Atwill et al., 1998; Silverlas et al., 2009). Vergleichend ist die Prävalenz in der vorliegenden Studie hoch (15.9%), wobei bedacht werden muss, dass Cryptosporidien von Kühen nicht kontinuierlich ausgeschieden werden (Atwill et al., 1998; Atwill et al., 2003; Silverlas et al., 2009). Unabhängig vom Geburtszeitpunkt wurden bei Kühen Prävalenzen von bis zu 71.8% beschrieben (Lorenzo et al., 1993). Aufgrund des Ausscheidungsmusters und geringer Infektionsintensität bei Kühen, ist die hier beschriebene Prävalenz des Cryptosporidien-Befalles bei einmaligen Beprobung vermutlich geringer. Die Bedeutung der Kühe als direkte Überträger des Parasiten auf neonatale Kälber ist allerdings schwierig abzuschätzen. In der Literatur wird dies kontrovers diskutiert und ist bis zum heutigen Zeitpunkt nicht schlüssig (Atwill et al., 1998; 2003; Faubert und Léitvinsky, 2000; Castro-Hermida et al., 2007). In der vorliegenden Studie scheint die Ausscheidung von Cryptosporidien-Oozysten durch das Muttertier keinen direkten Einfluss auf die Ausscheidung ihres Kalbes im Untersuchungszeitraum zu haben. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass es sich bei den nachgewiesenen Cryptosporidien teilweise um anderen Spezies handelt, welche für Kälber weniger oder nicht pathogen sind. In der Literatur ist zudem bekannt, dass die betroffenen empfänglichen Risikoaltersgruppen je nach Cryptosporidien-Spezies variieren können (Lindsay et al., 2000; Santin et al., 2004; Fayer et al., 2005; 2007).

Die Prävalenz von Cryptosporidien variierte bei den Kälbern zwischen den einzelnen Besuchszeitpunkten.

Die Ausscheidung des Parasiten erfolgt normalerweise wellenförmig mit einem Höchstwert in der zweiten Lebenswoche (Quilez et al., 1996; de la Fuente, 1999; Santin et al., 2004; Santin et al., 2008; Bartels et al., 2010). Prävalenzstudien bei bis 3-wöchigen Kälbern in der Schweiz zeigen eine ähnliche Situation (Luginbühl et al., 2005; Uhde et al., 2008). In der vorliegenden Studie betrug die Prävalenz von Cryptosporidien zum Zeitpunkt des zweiten Besuchs bei gesunden, bzw. an Durchfall erkrankten Kälbern 47.4%, bzw. 64.0%. Lu-

Klinische Epidemiologie der Kälber-Cryptosporidiose

S. E. Weber et al.

**Tabelle 3:** Enteropathogene bei Kälbern zu den drei Betriebsbesuchen post natum (pn).

Erreger		1. Besuch	2. Besuch	3. Besuch
n		64	63	60
Alter	Tag pn	1–4	7–20	26–49
	Mittelwert	2.6	11.8	34.4
	Median	3	11	34
	Standardabweichung	0.8	3.2	4.3
	Standardfehler	0.1	0.4	0.6
Rotavirus		2	18	8
Coronavirus		3	0	0
<i>E. coli</i> F5		3	2	9
<i>C. parvum</i>	ZN-Färbung <sup>§</sup>	21	28	11
	ELISA	1	31	16
	Total	22	34	20
<i>Giardia</i> spp.		1	4	21
<i>Eimeria</i> spp.		nd <sup>§§</sup>	nd	22
MDS <sup>§§§</sup>		nd	nd	3
<i>Strongyloides</i> spp.		nd	nd	7
Cryptosporidien-IgG <sup>§§§§</sup>	Mittelwert	0.489	0.396	0.346
	Median	0.430	0.343	0.260
	Standardabweichung	0.346	0.309	0.274
	Minimum	0.029	0.031	0.041
	Maximum	1.677	1.293	1.130

<sup>§</sup>: modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung

<sup>§§</sup>: nicht durchgeführt

<sup>§§§</sup>: Magendarm-Stronyliden

<sup>§§§§</sup>: Extinktionswerte für den anti-Cryptosporidien-IgG-ELISA bei einer Serum-Verdünnung von 1:400

**Tabelle 4:** Anzahl Enteropathogene bei Kälbern zu den drei Betriebsbesuchen post natum (pn).

	1. Besuch Tag 1–4 pn	2. Besuch Tag 7–20 pn	3. Besuch Tag 26–49 pn
Keine Enteropathogene	40	21	14
1 Enteropathogen	21	28	17
2 Enteropathogene	1	12	18
3 Enteropathogene	0	2	7
4 Enteropathogene	2	0	4
Anzahl Kälber total	64	63	60

Klinische Epidemiologie  
der Kälber-Cryptospori-  
diose

S. E. Weber et al.

ginbühl et al. (2005) fanden vergleichend dazu bei gesunden, bzw. an Durchfall erkrankten Kälbern eine Prävalenz von 21.0%, bzw. 43.0%. Wie auch die Cryptosporidien-Ausscheidung, verlief das Auftreten von Durchfall wellenförmig mit einer Höchstzahl an erkrankten Kälbern im Zeitraum der zweiten bis dritten Lebenswoche in unserer Studie wie auch früher beobachtet bei Bendali et al. (1999). Zwischen dem Auftreten von Durchfall und der Ausscheidung von Cryptospori-

dien konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang gefunden werden. In der Literatur finden sich bezüglich Cryptosporidien-Befall und Durchfall widersprüchliche Aussagen (Bjorkman et al., 2003; Gulliksen et al., 2009; Quilez et al., 1996; Trotz-Williams et al., 2007). Da bei allen Untersuchungen jeweils eine einmalige Beprobung in einem definierten Zeitfenster stattfand, besteht die Möglichkeit, dass der Durchfall übersehen wurde, da die Symptomatik vor oder nach dem

**Tabelle 5:** Assoziation möglicher Risikofaktoren zu Durchfall mit Cryptosporidien-Ausscheidung dargestellt für die verschiedenen Betriebsbesuche (logistische Regression).

Zeitraum (Tag pn)	Variable	Odds Ratio*	VI** (95%)
1–4	ln(Alter Kuh in Jahren) <sup>§</sup>	4.76	1.09–20.76
1–4	Kolostrumerstgabe in I <sup>#</sup>	0.49	0.18–1.31
7–20	Erwerbsanteil Vieh über 50%	6.21E-3	2.63E-4–0.15
7–20	ln(durchschnittl. Alter Kühe)	1593.96	13.44–1.89E5
7–20	Stalltyp	19.90	1.99–199.09
7–20	Alter Kb 1. Besuch	0.19	0.04–0.92
7–20	Schleimhautfarbe 2. Besuch <sup>#</sup>	5.27	0.65–42.85
7–20	ln(Neutrophile 2. Besuch) <sup>#</sup>	4.35	0.50–37.63
26–49	Alter Kb 3. Besuch	0.44	0.24–0.81
26–49	Art der Kolostrumzubereitung	0.10	0.02–0.64
26–49	Heu 3. Besuch	13.77	1.65–114.79
26–49	ln(Anzahl Geburten Kuh)	34.21	1.87–626.62
26–49	Körpertemperatur 3. Besuch	7.61E-3	1.30E-4–0.44
26–49	Kolostrum nicht steril	0.01	3.76E-4–0.52
26–49	Keine BT-Impfung 2010	102.78	1.94–5439.77
26–49	CA 2. Besuch	0.05	2.79E-3–0.89
26–49	AZ 2. Besuch	6.47E-4	4.88E-7–0.86

\*: Ausscheidung von Cryptosporidien am Tag 1–4 pn: nein (n=42), ja (n=22); Tag 7–20 pn: nein (n=29), ja (n=34); Tag 26–49 pn: nein (n=40), ja (n=20)

\*\* : Vertrauensintervall

<sup>#</sup>: Tendenz: 0.05 < p ≤ 0.20

<sup>§</sup>: ln(Alter Kuh in Jahren) = Logarithmus naturalis von „Alter Kuh in Jahren“

**Tabelle 6:** Assoziation möglicher Risikofaktoren zu asymptomatischer Cryptosporidien-Ausscheidung dargestellt für die verschiedenen Betriebsbesuche (logistische Regression).

Tag (pn)	Variable	Odds Ratio*	VI (95%)
1–4	ln(durchschnittl. ML Kuh <sup>§</sup> ) <sup>#</sup>	0.04	7.63E-4–1.93
1–4	Anzahl Entmistungen/Tag <sup>#</sup>	0.26	0.04–1.88
7–20	Stalltyp	21.66	1.99–235.68
7–20	IgG-Gehalt im Kolostrum	1.06	1.01–1.11
7–20	Milchmenge/Fütterung 1. Besuch	0.09	0.01–0.75
26–49	Art der Kolostrumzubereitung	0.24	0.08–0.72
26–49	Keine Grasfütterung 3. Besuch	0.03	1.56E-3–0.55
26–49	Normoblasten 1. Besuch	53.48	1.81–1582.28
26–49	Alter Kb 3. Besuch	0.61	0.40–0.93
26–49	Kolostrum nicht steril <sup>#</sup>	0.04	1.69E-3–1.07
26–49	Durchfall beim 2. Besuch <sup>#</sup>	0.12	9.50E-3–1.62

\*: Asymptomatische Cryptosporidienausscheidung am Tag 1–4 pn: nein (n=47), ja (n=17); Tag 7–20 pn: nein (n=45), ja (n=18); Tag 26–49 pn: nein (n=45), ja (n=15)

<sup>#</sup>: Tendenz: 0.05 < p ≤ 0.20

<sup>§</sup>: ln(durchschnittl. ML Kuh) = Logarithmus naturalis von „durchschnittliche Milchleistung pro Kuh“

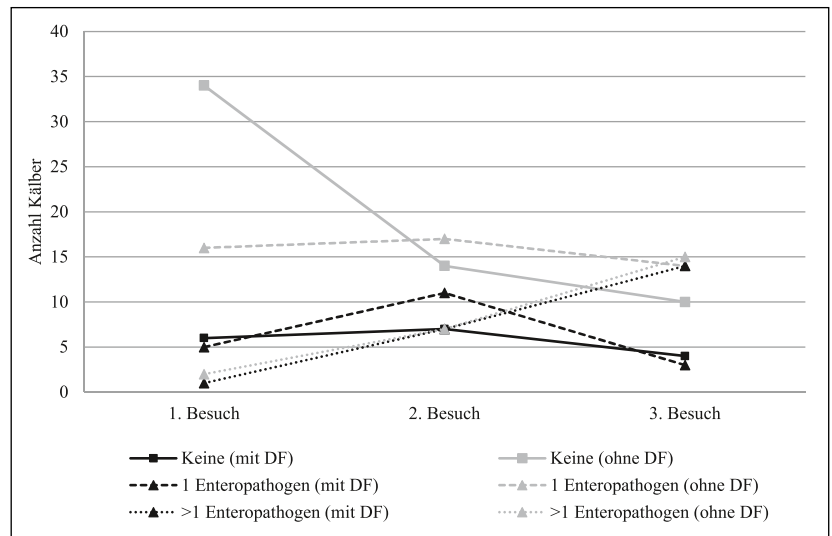


Besuch auftreten kann (Fayer et al., 1998). Zudem sollte der Nachweis von Cryptosporidien-Oozysten zum Zeitpunkt des 1. Besuchs, d.h. 1–4 Tage post natum (pn), kritisch betrachtet werden. Eigenen Beobachtungen zufolge, konnten Cryptosporidien-Oozysten bereits 24 Stunden nach experimenteller Inokulation mit einer hohen Oozysten-Dosis im Kot nachgewiesen werden (Weber, 2015). Ob es sich bei den zum Zeitpunkt des 1. Besuchs nachgewiesenen Oozysten um Darmpassagen oder neuen, im Kälberdarm gebildeten Oozysten handelt, lässt sich nicht abschliessend beurteilen, zumal in der Literatur der Nachweis von Oozysten bei natürlicher Infektion ab dem dritten Lebenstag beschrieben wurde (Lopez et al., 1988).

Die grosse Anzahl an Kolostrum- und Milchproben, welche mindestens unspezifische Mischkulturen aufwiesen, ist höchstwahrscheinlich auf eine Kontamination bei der Probenentnahme zurückzuführen (Tab. 1). Auch wenn in dieser wie auch in anderen Studien (Tzipori et al., 1983; Fayer et al., 1989; Harp et al., 1989; Perryman et al., 1999) keine Assoziation zwischen Kolostrum-Faktoren (spezifische gegen Cryptosporidien gerichtete Antikörper und Gesamt-IgG) und Ausscheidung von Oozysten ersichtlich wurde, war der Schweregrad des Durchfalles signifikant milder, wenn die Kolostrumversorgung ausreichend ( $> 12$  g/l IgG nach der Kolostrumgabe im Blutserum des Kalbes) war.

Obwohl nicht alle bisherigen Empfehlungen zur Bekämpfung der Cryptosporidiose beim Kalb in dieser Studie untersucht wurden, können betreffend Kälbermanagement verschiedene Vorkehrungen empfohlen werden. Allgemeine Hygienemassnahmen sind anzuwenden; idealerweise ist auf dem Betrieb jeweils eine Person nur für die Kälber zuständig, die beschränkte Kontakt zu älteren Tieren haben sollte. Kälber sollten nach Altersgruppen getrennt gehalten werden, um eine Übertragung von älteren Tieren auf Neugeborene zu verhindern. Wichtig ist zudem die Einhaltung der Tränkereihenfolge: die jüngsten Kälber sollten zuerst getränkt werden, gefolgt von den älteren und zuletzt den kranken Tieren. Falls möglich empfiehlt es sich, zumindest einen Tränkenuggi – optimal auch einen Eimer – pro Kalb zu verwenden. Da Cryptosporidien empfindlich gegenüber tiefen Temperaturen sind, können die Nuggis bei  $-20^{\circ}\text{C}$ , z. B. über Nacht, eingefroren werden um die Last der vorhandenen Oozysten stark zu reduzieren.

Durch die Anwendung von Halofuginon in den ersten Lebenstagen kann gemäss Silverlas et al. (2009) die Ausscheidung von Oozysten und das Auftreten von Durchfall reduziert werden. Weder in den unvariablen Analysen, noch in den multivariablen Modellen, hatte die Behandlung mit Halocur® einen signifikanten Einfluss



**Abbildung 1:** Nachweis von Enteropathogenen bei Kälbern im Zusammenhang mit Durchfall (DF) zu den drei Besuchszeitpunkten.

auf die Cryptosporidien-Ausscheidung und den Durchfall. Einzig zum Zeitpunkt des 2. Besuchs war zu beobachten, dass signifikant mehr Kälber welche Halocur® erhalten hatten, an Durchfall litten. Dies kann dadurch bedingt sein, dass Halocur® nur wie vorgesehen metaphylaktisch eingesetzt wurde, wenn schon Probleme auf dem Betrieb vorhanden waren. Der Einsatz wäre die Folge der Durchfall-Problematik. In Betrieben mit Kälberdurchfall als Bestandsproblem wurde bei 46.2% der Kälber prophylaktisch Halocur® eingesetzt, wohingegen nur 21.1% der Kälber aus Betrieben ohne solche Bestandsprobleme behandelt wurden.

In der vorliegenden Untersuchung zeigten Kälber in Offenstallhaltung ein höheres Risiko, beim ersten Besuch an Durchfall zu leiden, unabhängig von der Ausscheidung enteropathogener Erreger. In einer Studie aus Norwegen konnte gezeigt werden, dass Laufställe das Risiko für Durchfall bei Kälbern erhöhen können (Gulliksen et al., 2009). Dies wurde von den Autoren so begründet, dass der Kontakt zwischen den Tieren in Laufställen erhöht ist. Dies wäre auch eine mögliche Erklärung für die erhöhte Cryptosporidien-Ausscheidung von Kühen in der Offenstallhaltung der vorliegenden Studie.

Die kontinuierliche Belastung mit Cryptosporidien und anderen Enteropathogenen in Offenställen, bei denen es sich in den meisten Fällen um Laufställe handelt, könnte dazu geführt haben, dass Kolostrum dieser Kühe mehr spezifische IgG-Antikörper enthielt und die Kälber entsprechend beim zweiten Besuch besser vor einer Durchfall-Symptomatik geschützt waren. Die scheinbar nicht vorhandene protektive Wirkung des Kolostrums gegen Cryptosporidien-Infektionen wurde in der Literatur bereits beschrieben (Tzipori et al., 1983). Auch

Klinische Epidemiologie  
der Kälber-Cryptosporidiose

S. E. Weber et al.

Versuche mit Hyperimmunkolostrum zeigten nur partielle Effekte gegen den Durchfall und die Ausscheidung von Cryptosporidien, allerdings kann diese protektive, passiv erworbene Immunität die Wirkung von anderen kolostralen Faktoren wie Zellen und Zytokinen stammen (Fayer et al., 1989; Harp et al., 1989; Perryman et al., 1999).

Es besteht kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Cryptosporidien-Ausscheidung und dem Auftreten von Durchfall. Dies könnte bedeuten, dass vor allem andere Enteropathogene oder zumindest eine Kombination von Erregern für das Auftreten von infektiös-bedingtem Durchfall verantwortlich sein könnten. Eine Kombination von nicht-infektiösen Faktoren und Enteropathogenen könnte zu bedingt-infektiösem Durchfall führen.

Für die Nutztierpraxis ergeben sich folgende Schlussfolgerungen: Da weder Medikamente noch eine Bestands-Impfung die Ausscheidung von Cryptosporidien oder wenigstens die Klinik bei Kälbern wesentlich unterdrücken können, kommt der Verminderung der Erreger-Übertragung durch hygienische und Management-technische Massnahmen oberste Priorität zu (Bartels et al., 2001; Lefey et al., 2001; Silverlas et al., 2005). Dies kann durch Reinigung und Desinfektion der Abkalbeboxen sowie der Kälberiglus und -boxen

erreicht werden (Silverlas und Blanco-Penedo, 2013). Für die Desinfektion empfiehlt sich Neopredisan 135-1® (Vital AG, Oberentfelden, Schweiz), da dies das einzige, gegen Cryptosporidien wirksame Desinfektionsmittel darstellt, das in der Schweiz zugelassen ist (Informationssystem CliniPharm®; vetpharm.uzh.ch; Stand: Mai 2015). Im Anschluss an die Reinigung und Desinfektion sollten die Boxen und Iglus erst wieder eingestreut werden, wenn sie vollständig trocken sind, da Cryptosporidien empfindlich gegen Austrocknung sind (Robertson et al., 1992). Empfehlenswert ist zudem das Entfernen von Holztrennwänden zwischen den Kälberboxen, da diese eine gute Überlebensnische für Cryptosporidien-Oozysten und andere Pathogene bieten. Alternativ ist auch ein Streichen mit einer wasserabweisenden, ungiftigen Farbe möglich, um die Porosität der Oberfläche zu reduzieren. Es sollte zudem beachtet werden, dass die Kälberiglus genügend Abstand zueinander haben um eine direkte Übertragung von Pathogenen, um Beispiel durch kontaminiertes Oberflächenwasser zu verhindern.

## Dank

CL wurde durch den Forschungskredit der Universität Zürich und einem „Joint Appointment“ des Institutes für Parasitologie und der Nutztierklinik unterstützt.

## Epidémiologie clinique de la cryptosporidiose des veaux

Le but de la présente étude était d'étudier s'il existe un rapport entre l'apparition de cryptosporidies et des facteurs immunologiques, des facteurs liés à l'exploitation ainsi qu'à l'usage d'halofuginone. De janvier à juin 2010, on a examiné 63 paires mère-veau provenant de 20 exploitations du canton de Zürich. Au cours de 6 semaines on a effectué, à des moments choisis, trois visites. A ces occasions, des données relatives à l'exploitation ainsi que des échantillons de sang, de selles, de colostrum respectivement de lait ont été collectés. On a développé un test ELISA avec des antigènes de sporozoïtes pour mettre en évidence la présence IgG anti-cryptosporidies dans le sang et dans le colostrum. La concentration en IgG dans le colostrum et dans le sérum a été mesurée avec un test d'immunodiffusion radiale (RID). En outre on a réalisé une image sanguine différentielle des vaches et des veaux et effectué un test de Schalm chez les vaches. Un examen bactériologique a été réalisé sur un échantillon provenant des quatre quartiers. Les oocystes de cryptosporidies ont été mis en évidence au moyen d'une coloration de Ziehl-Neelsen modifiée, les autres protozoaires ont été mis en évidence par la méthode

## Epidemiologia clinica della cryptosporidiosi nei vitelli

Lo scopo di questo studio è di indagare sulla correlazione tra la presenza di Cryptosporidium e fattori immunologici e aziendali nonché l'uso di alofuginone. Da gennaio a giugno 2010, nel Canton Zurigo sono state esaminate 63 coppie madre-vitello provenienti da 20 diverse aziende. Nello spazio di 6 settimane sono state eseguite, in momenti determinati, tre visite che hanno raccolto dati sulla mandria e esaminati campioni di sangue, escrementi, colostro e latte. Per rilevare la presenza di anti-IgG Cryptosporidium nel sangue e nel siero di colostro è stato sviluppato un test ELISA con un antigene sporozoite. La concentrazione di IgG nel siero di colostro e nel siero sanguigno è stata determinata mediante RID (test di immunodiffusione radiale). Inoltre, è stato eseguito sulla bovina e sul vitello un emocromo differenziale e sulla vacca madre un CMT. Esami batteriologici sono stati eseguiti su campioni di latte proveniente dai quattro quarti. Oocisti di Cryptosporidium sono stati rilevati da una colorazione di Ziehl-Neelsen, gli altri protozoi con il metodo SAFC mentre con una combinazione di processi di sedimentazione/flottazione sono state rilevate uova di elminti e oocisti di *Eimeria*.

SAFC et les œufs d'helminthes ainsi que les oocystes d'*Eimeria* par un processus de sédimentation-flottation combiné. Un test ELISA a été utilisé pour les rota- et les coronavirus, les *E. coli* F5 et *Cryptosporidium* spp. dans les selles des bovins (Bio-X Diagnostics®, Belgique). La prévalence d'infections par des cryptosporidies était maximale entre le 7<sup>ème</sup> et le 20<sup>ème</sup> jour de vie des veaux (50.4%), 47.1% de ces veaux souffrant de diarrhée. Les stabulations libres augmentaient de façon significative le risque de diarrhée et d'excrétion de cryptosporidies entre le 1<sup>er</sup> et le 4<sup>ème</sup> jour respectivement entre le 7<sup>ème</sup> et le 20<sup>ème</sup> jour. La transmission d'IgG et l'immunité humorale des veaux n'empêchaient pas l'infection par des cryptosporidies mais la gravité de la diarrhée diminuait avec l'augmentation de la concentration des IgG totales. L'halofuginone, substance enregistrée pour la prophylaxie de la cryptosporidiose, n'a pas montré, dans cette étude, d'efficacité pour empêcher l'excrétion d'oocystes de cryptosporidies.

Un test ELISA è stato utilizzato per provare la presenza di Rotavirus e Coronavirus, *E. Coli* F5 e *Cryptosporidium* spp nelle feci bovine (Bio-X Diagnostics®, Belgio). La prevalenza di infezioni da *Cryptosporidium* si situava tra il 7° e il 20° giorno di vita del vitello ad alto livello (54.0%); il 47.1% di questi vitelli soffriva di diarrea. Il rischio di diarrea aumentava significativamente in caso di stalle aperte rispettivamente le secrezioni di *Cryptosporidium* tra il 1° e il 4° risp. il 7° e il 20° giorno di vita. La trasmissione con il colostro di IgG totali e l'immunità umorale dei vitelli non hanno potuto prevenire l'infezione da *Cryptosporidium* ma la gravità dei sintomi della diarrea diminuiva con l'aumento della concentrazione di IgG totali. In questo studio, l'approvato principio attivo alofuginone per la profilassi contro la cryptosporidiosi non ha mostrato nessun effetto sulla secrezione di oocisti di *Cryptosporidium*.

Klinische Epidemiologie der Kälber-Cryptosporidiose

S. E. Weber et al.

## Literatur

- Atwill E. R., Harp J. A., Jones T., Jardon P. W., Checel S., Zylstra M.: Evaluation of periparturient dairy cows and contact surfaces as a reservoir of *Cryptosporidium parvum* for calfhood infection. *Am. J. Vet. Res.* 1998, 59: 1116–1121.
- Atwill E. R., Hoar B., das Gracas Cabral Pereira M., Tate K. W., Rulofson F., Nader G.: Improved quantitative estimates of low environmental loading and sporadic periparturient shedding of *Cryptosporidium parvum* in adult beef cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, 69: 4604–4610.
- Bartels C. J., Holzhauer M., Jorritsma R., Swart W. A., Lam T. J.: Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Prev. Vet. Med.* 2010, 93: 162–169.
- Bendali F., Bichet H., Schelcher F., Sanaa M.: Pattern of diarrhoea in newborn beef calves in south-west France. *Vet. Res.* 1999, 30: 61–74.
- Bjorkman C., Svensson C., Christensson B., de Verdier K.: *Cryptosporidium parvum* and *Giardia intestinalis* in calf diarrhoea in Sweden. *Acta Vet. Scand.* 2003, 44: 145–152.
- Castro-Hermida J. A., Almeida A., Gonzalez-Warleta M., Correia da Costa J. M., Rumbo-Lorenzo C., Mezo M.: Occurrence of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in healthy adult domestic ruminants. *Parasitol. Res.* 2007, 101: 1443–1448.
- de la Fuente R., Luzon M., Ruiz-Santa-Quiteria J. A., Garcia A., Cid D., Orden J. A., Garcia S., Sanz R., Gomez-Bautista M.: *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. *Vet. Parasitol.* 1999, 80: 179–185.
- Eckert J., Friedhoff K.T., Zahner H., Deplazes P.: Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin, 2. Auflage, Hrsg.: Enke Verlag; 2008.
- Faubert G. M., Litvinsky Y.: Natural transmission of *Cryptosporidium parvum* between dams and calves on a dairy farm. *J. Parasitol.* 2000, 86: 495–500.
- Fayer R., Andrews C., Ungar B. L., Blagburn B.: Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves. *J. Parasitol.* 1989, 75: 393–397.
- Fayer R., Gasbarre L., Pasquali P., Canals A., Almeria S., Zarlenga D.: *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *Int. J. Parasitol.* 1998, 28: 49–56.
- Fayer R., Santin M., Trout J. M.: Prevalence of *Cryptosporidium* species and genotypes in mature dairy cattle on farms in eastern United States compared with younger cattle from the same locations. *Vet. Parasitol.* 2007, 145: 260–266.
- Fayer R., Santin M., Xiao L.: *Cryptosporidium bovis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *J. Parasitol.* 2005, 91: 624–629.
- Glaeser C., Grimm F., Mathis A., Weber R., Nadal D., Deplazes P.: Detection and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. isolated from diarrheic children in Switzerland. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2004, 23: 359–361.
- Gulliksen S. M., Jor E., Lie K. I., Hamnes I. S., Loken T., Akerstedt J., Osteras O.: Enteropathogens and risk factors for diarrhea in Norwegian dairy calves. *J. Dairy Sci.* 2009, 92: 5057–5066.
- Harp J. A., Woodmansee D. B., Moon H. W.: Effects of colostrum antibody on susceptibility of calves to *Cryptosporidium parvum* infection. *Am. J. Vet. Res.* 1989, 50: 2117–2119.
- Izzo M. M., Kirkland P. D., Mohler V. L., Perkins N. R., Gunn A. A., House J. K.: Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. *Aust. Vet. J.* 2011, 89: 167–173.
- Jarvie B. D., Trotz-Williams L. A., McKnight D. R., Leslie K. E., Wallace M. M., Todd C. G., Sharpe P. H., Peregrine A. S.: Effect of halofuginone lactate on the occurrence of *Cryptosporidium parvum* and growth of neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* 2005, 88: 1801–1806.
- Joachim A., Krull T., Schwarzkopf J., Dauschies A.: Prevalence and control of bovine cryptosporidiosis in German dairy herds. *Vet. Parasitol.* 2003, 112: 277–288.

- Klinische Epidemiologie der Kälber-Cryptosporidiose
- S. E. Weber et al.
- Lefay D., Naciri M., Poirier P., Chermette R.: Efficacy of halofuginone lactate in the prevention of cryptosporidiosis in suckling calves. *Vet. Rec.* 2001, 148: 108–112.
- Lindsay D. S., Upton S. J., Owens D. S., Morgan U. M., Mead J. R., Blagburn B. L.: *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporiidae) from cattle, *Bos taurus*. *J. Eukaryot. Microbiol.* 2000, 47: 91–95.
- Lopez J. W., Allen S. D., Mitchell J., Quinn M.: Rotavirus and *Cryptosporidium* shedding in dairy calf feces and its relationship to colostrum immune transfer. *J. Dairy Sci.* 1988, 71: 1288–1294.
- Lorenzo M. J., Ares-Mazas E., Villacorta Martinez de Maturana I.: Detection of oocysts and IgG antibodies to *Cryptosporidium parvum* in asymptomatic adult cattle. *Vet. Parasitol.* 1993, 47: 9–15.
- Luginbühl A., Reitt K., Metzler A., Kollbrunner M., Corboz L., Deplazes P.: Feldstudie zu Prävalenz und Diagnostik von Durchfallerregern beim neonaten Kalb im Einzugsgebiet einer schweizerischen Nutztierpraxis. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 2005, 147: 245–252.
- Morgan U., Weber R., Xiao L., Sulaiman I., Thompson R. C. A., Ndiritu W., Lal A., Moore A., Deplazes P.: Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates obtained from human immunodeficiency virus-infected individuals living in Switzerland, Kenya and the United States. *J. Clin. Microbiol.* 2000, 3: 1180–1183.
- Perryman L. E., Kapil S. J., Jones M. L., Hunt E. L.: Protection of calves against cryptosporidiosis with immune bovine colostrum induced by a *Cryptosporidium parvum* recombinant protein. *Vaccine* 1999, 17: 2142–2149.
- Quilez J., Sanchez-Acedo C., del Cacho E., Clavel A., Causape A. C.: Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle in Aragon (northeastern Spain). *Vet. Parasitol.* 1996, 66: 139–146.
- Riedel-Caspari G., Schmidt F. W.: The influence of colostral leukocytes on the immune system of the neonatal calf. III. Effects on phagocytosis. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr* 1991, 98: 330–334.
- Robertson L. J., Campbell A. T., Smith H. V.: Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures. *Appl. Environ. Microbiol.* 1992, 58: 3494–3500.
- Santin M., Trout J. M., Fayer R.: A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy cattle from birth to 2 years of age. *Vet. Parasitol.* 2008, 155: 15–23.
- Santin M., Trout J. M., Xiao L., Zhou L., Greiner E., Fayer R.: Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Vet. Parasitol.* 2004, 122: 103–117.
- Silverlas C., Bjorkman C., Egenvall A.: Systematic review and meta-analyses of the effects of halofuginone against calf cryptosporidiosis. *Prev. Vet. Med.* 2009, 91: 73–84.
- Silverlas C., Blanco-Penedo I.: *Cryptosporidium* spp. in calves and cows from organic and conventional dairy herds. *Epidemiol. Infect.* 2013, 141, 529–539.
- Schnyder M., Kohler L., Hemphill A., Deplazes P.: Prophylactic and therapeutic efficacy of nitazoxanide against *Cryptosporidium parvum* in experimentally challenged neonatal calves. *Vet. Parasitol.* 2009, 160: 149–154.
- Schweiger A., Grimm F., Tanner I., Müllhaupt B., Bertogg K., Müller N., Deplazes P.: Serological diagnosis of echinococcosis: the diagnostic potential of native antigens. *Infection* 2012, 40: 139–152.
- Trotz-Williams L. A., Wayne Martin S., Leslie K. E., Duffield T., Nydam D. V., Peregrine A. S.: Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Prev. Vet. Med.* 2007, 82: 12–28.
- Tzipori S., Smith M., Halpin C., Angus K. W., Sherwood D., Campbell I.: Experimental cryptosporidiosis in calves: clinical manifestations and pathological findings. *Vet. Rec.* 1983, 112: 116–120.
- Uhde F. L., Kaufmann T., Sager H., Albini S., Zanoni R., Schelling E., Meylan M.: Prevalence of four enteropathogens in the faeces of young diarrhoeic dairy calves in Switzerland. *Vet. Rec.* 2008, 163: 362–366.
- Ward P. I., Deplazes P., Regli W., Rinder H., Mathis A.: Detection of eight *Cryptosporidium* genotypes in surface and waste waters in Europe. *Parasitology* 2002, 124: 359–368.
- Weber S. E.: Klinische Epidemiologie der Kälbercryptosporidiose. *vet. med. Diss.*, Universität Zürich, 2015.
- Whitmire W. M., Harp J. A.: Characterization of bovine cellular and serum antibody responses during infection by *Cryptosporidium parvum*. *Infect. Immun.* 1991, 59: 990–995.

## Korrespondenz

Prof. Dr. med. vet. M. Hässig MPH FVH Nutztiere  
Dipl. ECBHM & ECVPH  
Departement für Nutztiere  
Abteilung Ambulanz und Bestandesmedizin  
Winterthurerstrasse 260  
CH-8057 Zürich  
E-Mail: mhaessig@vetclinics.uzh.ch